

1/RTS

1

JC10 Rec'd PGT/PTO 15 NOV 2001

**Vorrichtung und Verfahren zur photolithographischen  
Belichtung von biologischen Stoffen**

5 Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung und ein Verfahren zur photolithographischen Belichtung von biologischen Stoffen.

10 DNA-Chips sind kleinste, meist planare Oberflächen, auf welchen räumlich geordnet eine große Anzahl verschiedener Oligomere (kurze, einsträngige DNA-Moleküle) angebracht sind. Solche Chips werden beispielsweise zur parallelen Erkennung zahlreicher DNA-Sequenzen in einer präparierten Gewebeprobe verwendet. Dazu benetzt man die

15 Chipoberfläche mit einer Lösung von einsträngigen DNA-Stücken aus der Gewebeprobe, worauf sich komplementär passende DNA-Stücke aus der Lösung an die entsprechenden, an die Chipoberfläche angebrachten Oligomere anlagern (Hybridisierung). Danach bestimmt man mit einer

20 geeigneten Methode wie z.B. Fluoreszenzmarkierung, an welchen Stellen auf dem Chip eine Hybridisierung stattgefunden hat. Wenn man weiss, wo auf dem Chip welche Oligomere angebracht sind, kann man somit Rückschlüsse auf DNA-Sequenzen in der Gewebeprobe machen. Dazu

25 definiert man in der Regel auf der Chip-Trägerfläche ein dichtes rechtwinkliges Raster. Auf jedem Rasterpunkt ist in Form eines kleinen Flecks genau eine Sorte von Oligomer angebracht. Die maximal mögliche Anzahl von verschiedenen DNA-Sequenzen auf dem Chip ist demzufolge

30 gleich der Anzahl der Rasterpunkte. Da man möglichst viele Sorten von Oligomeren auf einen Chip aufbringen will, die Chips aber gleichzeitig so klein wie möglich sein sollten, um effektiv hybridisiert werden zu können, ist es ein wichtiges Ziel bei der Herstellung von DNA-

35 Chips, eine möglichst hohe Rasterdichte zu erreichen.

Im Stand der Technik sind verschiedene Verfahren zur DNA-Chip Herstellung bekannt.

- 1) Alle Oligomere werden auf herkömmliche Weise einzeln  
5 im Reagenzglas synthetisiert und danach an den vorgesehenen Rasterpunkten auf den Träger aufpipettiert, typischerweise von einer automatischen Micropipettieranlage. Diese Methode ist sehr aufwendig und teuer, da jedes Oligomer einzeln hergestellt bzw.  
10 gekauft und von Hand der Pipettieranlage zugeführt werden muss. Die Rasterdichte ist durch die hohe Winkelungenauigkeit der heute verfügbaren, typischerweise piezoelektrischen Mikropipetten stark limitiert.
- 2) Die Oligomere werden mit Hilfe einer automatischen Mikropipettieranlage direkt auf dem Chip synthetisiert.  
Auf jedem Rasterpunkt wird die dort vorgesehene Oligomerkette Baustein für Baustein (Nukleobasen) aufgebaut. Das chemische Verfahren ist grundsätzlich das  
20 selbe wie bei der herkömmlichen Oligomer-Synthese im Reagenzglas. Der Unterschied ist, dass alle Oligomere gleichzeitig, von einer einzigen automatischen Anlage direkt am vorgesehenen Bestimmungsort hergestellt werden. Die bei Methode 1) separaten Arbeitsschritte Oligomer-  
25 Synthese und Micropipettierung werden somit zu einem einheitlichen Arbeitsschritt zusammengefasst. Diese in situ Synthese läuft normalerweise wie folgt ab: Auf einem vorpräparierten Substrat tropft der Pipettierautomat sequentiell auf jedem Rasterpunkt die dort vorgesehene  
30 erste Nukleobase auf. Dies ist mechanisch nicht sehr aufwendig, da es nur 4 verschiedene Nukleobasen (C, T, G, A) gibt. Man kann dafür z.B. 4 aneinandergeschaltete Mikropipetten verwenden. Nach dem Auftragen des ersten Nukleosidbausteins auf jedem Rasterpunkt wird das  
35 Substrat gewaschen und nach einem "Capping Schritt" die Schutzgruppen an den 5'-OH Funktionen entfernt, um die

- Reaktion mit dem jeweils nachfolgenden Nukleosidbaustein zu ermöglichen. Danach wird an jedem Rasterpunkt die zweite Nukleobase aufpipettiert. Das Substrat wird dann wieder gewaschen und entschützt. Auf diese Weise baut man
- 5 Schritt für Schritt auf jedem Rasterpunkt die jeweils erforderlichen Oligomerketten auf. Diese Methode ist nicht besonders schnell, da nacheinander auf jedem Rasterpunkt für jede Nukleobase neu pipettiert werden muss. Wie bei Methode 1) ist die Rasterdichte durch die
- 10 Ungenauigkeit der Micropipetten beschränkt. Die Ungenauigkeit wirkt sich hier noch schlimmer aus, da jeder Rasterpunkt mehrmals nacheinander auf möglichst identische Weise getroffen werden muss.
- 15 3) Die Oligomere werden wie bei 2) direkt auf dem Träger synthetisiert, die gezielte Anbindung der richtigen Nukleobasen an den richtigen Rasterpunkten geschieht jedoch durch eine vollkommen parallele, photolithographische Technik anstelle von sequenziellen,
- 20 zielgenauen Pipettierschritten. Das Verfahren basiert darauf, dass man mit Licht einer bestimmten Wellenlänge gezielt die 5'-OH Schutzgruppen von Oligonukleotiden entfernen kann. Durch geeignete örtliche Bestrahlungsmuster kann man somit Oligonukleotid-Enden an
- 25 genau jenen Rasterpunkten reaktionsfähig machen, an denen man im nächsten Schritt eine neues Nukleosid anbringen will. Bei vollständiger Benetzung der Chipoberfläche mit einer Nukleotidbaustein-Lösung wird somit nur an den vorher belichteten Stellen ein Nukleotidbaustein
- 30 angebunden, alle unbelichteten Stellen bleiben unverändert. Die örtlichen Belichtungsmuster werden erzeugt, indem man eine microphotographische schwarz-weiss Maske zwischen dem Substrat und der Lichtquelle positioniert, die alle Rasterstellen abdeckt, die nicht
- 35 reaktionsfähig gemacht werden sollen. Die Verlängerung der Oligomer-Ketten auf allen Rasterpunkten um eine

Nukleobase geschieht demnach wie folgt: Mit Hilfe einer ersten Maske werden genau jene Rasterpunkte belichtet, welche um die erste der 4 möglichen Sorten von Nukleobasen (z.B. C) erweitert werden müssen. Danach wird

5 der Chip mit einer Lösung des entsprechenden Nukleotidbausteins benetzt, worauf nur die belichteten Punkte um diese Base verlängert werden. Da die neu angebundenen Basen noch alle über eine Schutzgruppe verfügen, werden sie in den folgenden Schritten nicht

10 weiter reagieren, bis ihre Schutzgruppen durch eine weitere Belichtung abgespaltet werden. Nach diesem Reaktionsschritt wird der Chip gewaschen. Nun werden mit Hilfe einer zweiten Maske genau jene Rasterstellen belichtet, welche um die zweite der 4 möglichen Sorten

15 von Nukleobasen (z.B. T) erweitert werden müssen. Darauf wird der Chip wiederum mit einer Lösung des entsprechenden Nukleotidbausteins benetzt und die belichteten Stellen dadurch um diese Base verlängert. Genauso verfährt man für die verbleibenden zwei Basen

20 (z.B. G und A). Für die Verlängerung aller Oligomere um eine Nukleobase benötigt man demzufolge vier Belichtungsschritte bzw. 4 Photomasken. Diese Methode ist wegen der hohen Parallelität sehr effizient, zudem ist sie wegen der hohen Präzision, die mit Photolithographie

25 erreicht werden kann, geeignet, um sehr hohe Rasterdichten zu erzielen. Allerdings ist die Methode sehr aufwendig und somit teuer, da man für die Herstellung einer bestimmten Sorte von Chip zuerst eine grosse Anzahl von Photomasken erzeugen muss. Bei hohen

30 Rasterdichten werden zudem hohe Anforderungen an die Positionierungsgenauigkeit der Masken während der Belichtung gestellt, die effizient nur durch Verwendung von teuren Apparaturen erfüllt werden können.

35 4) Es wird dasselbe Verfahren angewandt wie bei 3), nur verwendet man anstelle der grossen Zahl von

photographischen Masken eine einzige, transmissive Flüssigkristallanzeige, die elektronisch angesteuert wird und als dynamische Maske dient. Diese Methode ist einfach und billig, da keine photographischen Masken erzeugt werden müssen und das Positionierungsproblem entfällt. Ein mögliches Problem dieser Methode ist der limitierte optische Kontrast der heute verfügbaren Flüssigkristallanzeigen (maximal 1:100). Das Lichtintensitätsverhältnis zwischen belichteten und abgedeckten Punkten wird dadurch reduziert, was eine Ausbeuteverminderung bei der Oligomersynthese zur Folge haben kann.

Diese Methoden nach dem Stand der Technik weisen eine Reihe von Nachteilen auf. Unter den oben beschriebenen Herstellungsmethoden für DNA-Chips ist die photolithographische Methode mit dynamischen Flüssigkristall-Masken die einzige, die eine einfache, billige und zuverlässige Herstellung von Chips mit hoher Rasterdichte erlaubt. Der mangelhafte Kontrast der Flüssigkristallanzeigen hat jedoch eine Verminderung der Qualität der Oligomerpunkte zur Folge, was letztendlich die Detektionsempfindlichkeit des Chips vermindert.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es daher, eine Vorrichtung zu schaffen, welche die Nachteile des Standes der Technik überwindet. Eine weitere Aufgabe der Erfindung ist die Schaffung eines weiteren Verfahrens zur photolithographischen Belichtung biologischer Stoffe.

Die Aufgabe wird durch die kennzeichneten Merkmale des Hauptanspruchs gelöst. Vorteilhafte Ausgestaltungen der Erfindung sind in den abhängigen Unteransprüchen gekennzeichnet.

35

Die Aufgabe wird erfindungsgemäß dadurch gelöst, daß eine Vorrichtung zur photolithographischen Belichtung von biologischen Stoffen geschaffen wird, umfassend mindestens eine Lichtquelle, ein Lichtleiterbündel und  
5 eine Steuerungseinheit, wobei jeder der Lichtleiter unabhängig voneinander mit Licht ansteuerbar und/oder Licht in diesen einkoppelbar ist.

Bevorzugt ist es dabei, daß die Lichtquelle  
10 monochromatisches oder kontinuierliches Licht in einem Wellenlängenbereich von 100 bis 800 nm aussendet. Besonders bevorzugt ist es, daß die Lichtquelle ein Laser, eine Leuchtdiode, eine Metalldampflampe, eine Gasentladungslampe, eine Gasanregungslampe, eine  
15 Glühfadenlampe oder eine Lichtbogenlampe ist.

Weiterhin vorteilhaft ist es, daß zur Ansteuerung der einzelnen Lichtleiter Leuchtdioden und/oder optische  
20 Schalter angeordnet sind.

Besonders vorteilhaft ist es ferner, daß zu belichtende Stoffe direkt an den Enden der Lichtleiter aufgebracht sind. Bevorzugt ist es aber auch, daß zu belichtende  
25 Stoffe auf einem separaten Träger angeordnet sind.

Ganz besonders bevorzugt ist es, daß zu belichtende Stoffe auf einem separaten Träger angeordnet sind, wobei dieser Träger ein DNA-Chip, ein PNA-Chip oder ein Peptid-Chip ist.  
30

Erfindungsgemäß weist die Vorrichtung vorzugsweise zusätzlich mindestens einen Detektor auf.

Bevorzugt ist dabei, daß mindestens einer der Detektoren  
35 derart angeordnet ist, daß dieser das zur Belichtung verwendete Licht erfaßt und/oder mindestens ein Detektor

derart angeordnet ist, daß dieser das von den belichteten Stoffen reflektierte und/oder durch Fluoreszenz erzeugte Licht erfaßt und daß zur Lichtführung für die Detektoren gegebenenfalls Lichtleiter und/oder Lichtleiterbündel  
5 vorgesehen sind. Insbesondere bevorzugt ist hierbei, daß die Detektoren CCD-Detektoren und/oder CCD-Kamera sind.

Ganz besonders bevorzugt ist es, daß zur Ansteuerung der einzelnen Lichtleiter eine dynamische Maske vorgesehen  
10 ist. Besonders bevorzugt ist es auch, daß zur Ansteuerung der einzelnen Lichtleiter ein Satz von statischen Masken vorgesehen ist.

Äußerst bevorzugt ist eine erfindungsgemäße Vorrichtung,  
15 wobei die Lichtquelle ein solches Spektrum von Wellenlängen emittiert, welches die Entschützung von Nukleotiden, Nukleotidanaloga und Peptid-Nukleinsäurebausteinen zur Kettenverlängerung und zum Aufbau von Oligomeren bewirkt und daß zwischen dieser  
20 Lichtquelle und dem Substrat ein Bündel von Lichtleiterfasern angeordnet ist, in welche jeweils durch gezielte Ansteuerung selektiv Licht einkoppelbar ist und daß hinter dem Lichtleiterbündel die Festphase, auf der die Oligomersynthese stattfindet, präzise und starr  
25 positioniert ist und daß die Festphase, auf welcher die Oligomersynthese stattfindet, in einer Kammer angeordnet ist, in die durch weitere Vorrichtungen die zur DNA oder PNA Synthese notwendigen Lösungen und/oder Reagenzien an diese Festphase heranführbar sind.

30 Bevorzugt ist es erfindungsgemäß hierbei, daß man als Festphase, auf der die Oligomersynthese stattfindet, einen separaten Träger anordnet. Erfindungsgemäß bevorzugt ist ferner, daß die Enden der Lichtleiterfasern  
35 selbst die Festphase zur Durchführung der Oligomersynthese sind.

Ein weitere Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein Verfahren zur photolithographischen Belichtung von biologischen Stoffen, wobei man diese auf einer  
5 Oberfläche oder am Ende eines Lichtleiters anordnet und mittels Licht, welches durch Lichtleiter geführt ist und aus einer Lichtquelle stammt, welche am anderen Ende der Lichtleiter angeordnet ist, belichtet, wobei man jeden Punkt, welcher einem Lichtleiterende gegenüberliegt,  
10 unabhängig von den anderen Punkten belichtet, wobei man das Belichtungsmuster mittels einer Steuerungseinheit vorwählt.

Bevorzugt ist es hierbei nämlich zur Belichtung von DNA- oder PNA-Chips, daß man Licht der Wellenlängen verwendet, welches die Entschützung von Nukleotiden, Nukleotidanaloga und Peptid-Nukleinsäurebausteinen zur Kettenverlängerung und zum Aufbau von Oligomeren bewirkt und daß man zwischen dieser Lichtquelle und dem Substrat  
20 ein Bündel von Lichtleiterfasern anordnet, in welche jeweils durch gezielte Ansteuerung selektiv Licht eingekoppelt wird und daß man hinter dem Lichtleiterbündel die Festphase, auf der die Oligomersynthese stattfindet, präzise und starr  
25 positioniert und daß man die Festphase, auf welcher die Oligomersynthese stattfindet, in einer Kammer anordnet, in die man durch weitere Vorrichtungen die zur DNA oder PNA Synthese notwendigen Lösungen und/oder Reagenzien an diese Festphase heranzuführt.

30 Erfindungsgemäß bevorzugt ist ferner, daß man nach erfolgter Oligomerisierung auf den DNA- oder PNA-Chips weiterhin die nachfolgenden Hybridisierungen mit einer Ziel-DNA durchführt.

35



Erfindungsgemäß ist ferner ein Verfahren, wobei man zur Durchführung des Verfahrens eine erfindungsgemäße Vorrichtung verwendet.

5 Überraschenderweise wurde gefunden, daß die erfindungsgemäße Vorrichtung eine einfache und preiswerte photolithographische Herstellung von DNA-Chips hoher Rasterdichte mit einem Belichtungscontrast von weit über 1:100 ermöglichen. Dadurch wird erstmals die einfache  
10 Produktion von qualitativ hochstehenden DNA-Chips in jedem beliebigen Labor möglich.

Die erfindungsgemäße Vorrichtung und das Verfahren lösen die gestellte Aufgabe auf völlig neuartige Art und Weise  
15 durch Kombination kommerziell erhältlicher Komponenten. Es ermöglicht die billige Herstellung von DNA-Chips in einer Qualität, wie sie vorher nicht möglich war.

Das grundlegende Konzept der erfindungsgemäßen  
20 Vorrichtung und des Verfahrens besteht darin, dass man ein bestimmtes Belichtungsmuster auf dem Substrat nicht durch gezielte Abdeckung von Rasterpunkten mit Hilfe einer statischen oder dynamischen Maske erzeugt, sondern indem man individuell jedem zu belichtenden Rasterpunkt  
25 das Licht direkt über einen optischen Lichtleiter zuführt. Es muss also über jedem Rasterpunkt das Ende einer optischen Lichtleiterfaser so angebracht sein, dass bei Lichteinkopplung in die Faser das am Ende austretende Licht genau den entsprechenden Rasterpunkt  
30 beleuchtet. Es werden folglich genau so viele Lichtleiterfasern benötigt wie Rasterpunkte vorgesehen sind. Um so beliebige Belichtungsmuster erzeugen zu können, muss unabhängig für jede einzelne Lichtleiterfaser gesteuert werden können, ob ihr zu einem  
35 gegebenen Zeitpunkt Licht eingekoppelt wird oder nicht. Durch gezieltes Einkoppeln bzw. nicht Einkoppeln von

Licht in die richtigen Fasern kann man somit bei jedem Belichtungsschritt ausschliesslich jene Rasterpunkte belichten, die aktiviert werden müssen, während man alle anderen unbelichtet lässt.

5

Das gezielte Einkoppeln von Licht in die jeweils richtigen Fasern muss vollautomatisch elektronisch gesteuert werden können, damit die Methode einfach durchführbar ist. Eine mögliche technische Lösung ist, am Anfang jedes Lichtleiters eine eigene, elektrisch ein- und ausschaltbare Lichtquelle (z.B. eine Laserdiode richtiger Wellenlänge) anzubringen. Eine andere Möglichkeit ist die Verwendung von kommerziell erhältlichen, elektrisch ansteuerbaren optischen Schaltern. Es handelt sich dabei um eine Hardware-Komponente mit 2 Anschlüssen für 2 Lichtleiterfasern und einem elektrischen Steuerungseingang. Durch ein elektrisches Signal am Steuerungseingang kann bestimmt werden, ob die beiden Lichtleiterfasern optisch verbunden werden sollen oder nicht. Für jeden Rasterpunkt benötigt man somit einen optischen Schalter und zwei Lichtleiterfasern. Dem freien Ende der ersten Faser koppelt man permanent Licht ein, das freie Ende der zweiten Faser dient als Lichtausgang und wird über dem jeweiligen Rasterpunkt befestigt. Für die Lichteinkopplung genügt eine einzige Lichtquelle, wenn man alle Eingangsfasern entsprechend bündelt.

Für die elektrische Steuerung sind beide Methoden der gezielten Lichteinkopplung gleichwertig. Man benötigt lediglich eine Ansteuerelektronik, die jeden Rasterpunkt individuell adressieren kann. Grundsätzlich spielt es keine grosse Rolle, ob man dabei Leuchtdioden oder optische Schalter ansteuert.

35

Eine weitere Möglichkeit zur gezielten Lichteinkopplung in die einzelnen Fasern des Lichtleiterfaserbündels ist die Verwendung von automatisch positionierten statischen Masken (z.B. Photo- oder Lochmasken) oder einer

5 elektronisch ansteuerbaren dynamischen Maske (z.B. LCD), welche man zwischen die Lichtquelle und die Eingangsseite des Faserbündels bringt. Mit den Masken kann man gezielt jene Fasereingänge verdecken, in die beim jeweiligen Belichtungsschritt kein Licht eingekoppelt werden soll.

10 Die Masken können dabei geometrisch anders angeordnet und insbesondere viel größer sein als die zu belichtende Arrayfläche, da auf der Einkopplungsseite das Lichtleiterbündel beliebig aufgefächert bzw. in die einzelnen Fasern aufgetrennt werden kann.

15 Für die maximal erzielbare Chip-Rasterdichte ist es grundsätzlich irrelevant, wieviel Platz das Lichteinkopplungssystem (einzelne Lichtquellen, optische Schalter, statische oder dynamische Masken) beansprucht.

20 Die Rasterdichte ist allein davon abhängig, wie dicht man die Faserenden bündeln kann, an denen das Licht austritt. Diese Möglichkeit der geometrischen Verdichtung stellt den wesentlichsten Nutzen der Erfindung dar. Bei einem typischen Faserdurchmesser um 100 Mikrometer kann man auf

25 der Belichtungsseite ungefähr 10000 Rasterpunkte auf einem Quadratzentimeter erreichen, was für viele Anwendungen hinreichend ist.

Falls es zu aufwendig ist, die über dem Substrat anzubringenden Lichtleiterfaserenden in einem

30 gleichmässigen, rechtwinkligen Gitterraster anzuordnen, kann man auch ein ungeordnetes Faserbündel über dem Substrat befestigen. Die Punkte auf einem so angefertigten Chip sind dann nicht mehr rasterförmig,

35 sondern zufällig und unregelmäßig angeordnet. Trotzdem sind bei allen Chips, die mit derselben

Lichtleiteranordnung hergestellt worden sind, die Positionen der Punkte identisch. Grundsätzlich kann man wissen, welche Oligomersorte an welcher Stelle des Chips synthetisiert worden ist. Es genügt für eine gegebene  
5 Syntheseanordnung mit zufälliger Lichtfaserbündelung, ein einziges Mal nacheinander jedem einzelnen Lichtleiter Licht einzukoppeln, und mit einem hochauflösendem CCD-Detektor, der in die Substratebene gelegt wird, die Position der austretenden Lichtkegel festzustellen. Auf  
10 diese Weise kann man eine vollständige Tabelle mit der Zuordnung aller Ansteuerungsadressen zu den entsprechenden x-y Substratpositionen erstellen. Diese Information verwendet man später bei der Auswertung aller Chips, die mit der entsprechenden Anordnung hergestellt  
15 werden.

Für eine Auswertung nach dem Fluoreszenzmarkierungsverfahren kann man optional die selbe ungerasterte Lichtleiteranordnung verwenden, die  
20 man bei der Herstellung verwendet hat, nur dass man nun am anderen Faserende nicht Licht einkoppelt, sondern mit Photodetektoren das jetzt stellenweise auf der Substratseite eintretende Fluoreszenzlicht misst. Dazu muss man an Stelle der Lichtquelle(n) an jedem Faserende  
25 einen separaten Photodetektor anbringen. Ein solches optisches Lesesystem mit Lichtleitern kann die Chip-Detektion gegenüber der herkömmlichen Detektionsmethode mit CCD-Detektoren erheblich vereinfachen.

30 Eine sehr interessante und neuartige Anwendungsvariante des hier beschriebenen DNA-Chip Syntheseverfahrens ist die Synthese von Oligomeren direkt auf den Lichtleiterenden anstatt auf einem separaten Substrat. Dies kann erreicht werden, indem man die  
35 Lichtleiterfaser-Endflächen, durch die das Licht austritt, auf ähnliche Weise chemisch präpariert wie

sonst bei herkömmlichen DNA-Chips Trägerfläche. Dadurch wird jedes Lichtleiterende selber zu einem kleinen, unabhängigen Träger, auf welchem man nun mit der üblichen photolithographischen Chemie genau eine Sorte von

5 Oligomer synthetisieren kann. Das photoaktivierende Licht wird somit nicht mehr von aussen auf die Trägersoberfläche aufgestrahlt, sondern tritt direkt an der Trägersoberfläche aus dem transparenten, lichtleitenden Trägermaterial aus. Statt einer einzigen Trägerfläche mit

10 vielen verschiedenen, kleinen Oligomerpunkten hat man nun eine Vielzahl von getrennten kleinen Trägerflächen mit je einer Sorte von Oligomer darauf. Wie bei den herkömmlichen Chips müssen die Oligomerpunkte dicht beieinander liegen, damit sie für eine effiziente

15 Hybridisierung verwendet werden können. Dies kann wie oben beschrieben durch dichte Bündelung der Faserenden erreicht werden.

Bei einer solchen Synthese auf Lichtleiterenden bleibt

20 die hergestellte Oligomerpunkteschar untrennbar mit der zur Herstellung verwendeten Vorrichtung verbunden. Hybridisierung und anschliessende Detektion werden dann ebenfalls an den Lichtleiterenden vorgenommen, wobei man für eine Fluoreszenzdetektion wieder die Lichtleiter in

25 umgekehrter Richtung zum Auslesen der Fluoreszenzsignale verwendet. Nach einem Synthese-Hybridisierung-Detektionszyklus kann man die Lichtleiterfaserenden chemisch reinigen und die Vorrichtung somit für eine Neue Synthese bereitmachen.

30 Die vorliegende Erfindung soll anhand der beigefügten Zeichnung näher erläutert werden.

Es zeigen:

35

Fig. 1 den schematischen Aufbau einer ersten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung, bei welcher die Ansteuerung der Fasern durch optische Schalter dargestellt ist;

5

Fig. 2 den schematisch Aufbau einer zweiten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung, bei welcher die Ansteuerung der Fasern durch einzelne Lichtquellen dargestellt ist;

10

Fig. 3 den schematischen Aufbau während der Belichtung eines separaten Trägers (Chip) und

15

Fig. 4 den schematischen Aufbau während der Belichtung, wobei sich das Substrat direkt an den faserenden befindet.

20

In Figur 1 ist ein erstes Ausführungsbeispiel einer erfindungsgemäßen Vorrichtung dargestellt. Aus der Lichtquelle A wird mittels der Lichtleiter F das Licht über die elektrisch angesteuerten optischen Schalter B auf den Array-Träger C geleitet. Die Steuerung S, vorzugsweise ein Computer, sorgt für die entsprechende Ansteuerung der einzelnen Schalter B in vorgegebener Weise in Form einer dynamischen oder statischen Maske.

25

30

In Figur 2 ist ein zweites Ausführungsbeispiel einer erfindungsgemäßen Vorrichtung dargestellt. Aus einer Vielzahl von der Lichtquellen A wird mittels der Lichtleiter F das Licht auf den Array-Träger C geleitet. Die Steuerung S, vorzugsweise ein Computer, sorgt für die entsprechende Ansteuerung der einzelnen Schalter A in vorgegebener Weise. Auch hier kann die Ansteuerung in Form einer dynamischen oder statischen Maske erfolgen.

35

Figur 3 zeigt im Detail, wie die einzelnen Substratpunkte E auf dem Array-Träger C durch die Lichtleiterfasern F belichtet werden.

- 5 In Figur 4 ist gezeigt, daß die Substrate direkt an der Enden der Lichtleiterfasern F angeordnet sind.

- Dem Fachmann ist klar, wie die einzelnen Bauteile in einer erfindungsgemäßen Vorrichtung anzuordnen sind. Auch  
10 die entsprechende Programmierung der Steuerung mittels Computerprogrammen ist dem Fachmann an sich bekannt.

## Bezugszeichenliste

- A: Lichtquelle
- 5 B: elektrisch angesteuerter optischer Schalter
- C: Array-Träger
- D: Substrat an den Faserenden
- E: Substratpunkte auf dem Array-Träger
- F: Lichtleiterfaser
- 10 S: Steuerung (Computer)



## Patentansprüche

1. Vorrichtung zur photolithographischen Belichtung von biologischen Stoffen, umfassend mindestens eine Lichtquelle, ein Lichtleiterbündel und eine Steuerungseinheit, wobei jeder der Lichtleiter unabhängig voneinander mit Licht ansteuerbar und/oder Licht in diesen einkoppelbar ist.
2. Vorrichtung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Lichtquelle monochromatisches oder kontinuierliches Licht in einem Wellenlängenbereich von 100 bis 800 nm aussendet.
3. Vorrichtung gemäß Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Lichtquelle ein Laser, eine Leuchtdiode, eine Metaldampflampe, eine Gasentladungslampe, eine Gasanregungslampe, eine Glühfadenlampe oder eine Lichtbogenlampe ist.
4. Vorrichtung gemäß einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß zur Ansteuerung der einzelnen Lichtleiter Leuchtdioden und/oder optische Schalter angeordnet sind.
5. Vorrichtung gemäß einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß zu belichtende Stoffe direkt an den Enden der Lichtleiter aufgebracht sind.
6. Vorrichtung gemäß einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß zu belichtende Stoffe auf einem separaten Träger angeordnet sind.
7. Vorrichtung gemäß einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß zu belichtende Stoffe auf

einem separaten Träger angeordnet sind, wobei dieser Träger ein DNA-Chip, ein PNA-Chip oder ein Peptid-Chip ist.

- 5      8. Vorrichtung gemäß einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Vorrichtung zusätzlich mindestens einen Detektor umfaßt.
- 10      9. Vorrichtung gemäß Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß mindestens einer der Detektoren derart angeordnet ist, daß dieser das zur Belichtung verwendete Licht erfaßt und/oder mindestens ein Detektor derart angeordnet ist, daß dieser das von den belichteten Stoffen reflektierte und/oder durch Fluoreszenz  
15      erzeugte Licht erfaßt und daß zur Lichtführung für die Detektoren gegebenenfalls Lichtleiter und/oder Lichtleiterbündel vorgesehen sind.
- 20      10. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 8 oder 9, dadurch gekennzeichnet, daß die Detektoren CCD-Detektoren und/oder CCD-Kameras sind.
- 25      11. Vorrichtung gemäß einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß zur Ansteuerung der einzelnen Lichtleiter eine dynamische Maske  
30      vorgesehen ist.
- 35      12. Vorrichtung gemäß einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß zur Ansteuerung der einzelnen Lichtleiter ein Satz von statischen Masken  
35      vorgesehen ist.
- 35      13. Vorrichtung gemäß einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Lichtquelle ein solches Spektrum von Wellenlängen emittiert, welches die Entschützung von Nukleotiden, Nukleotidanaloga

und Peptid-Nukleinsäurebausteinen zur Kettenverlängerung und zum Aufbau von Oligomeren bewirkt und daß zwischen dieser Lichtquelle und dem Substrat ein Bündel von Lichtleiterfasern angeordnet ist, in welche jeweils durch gezielte Ansteuerung selektiv Licht einkoppelbar ist und daß hinter dem Lichtleiterbündel die Festphase, auf der die Oligomersynthese stattfindet, präzise und starr positioniert ist und daß die Festphase, auf welcher die Oligomersynthese stattfindet, in einer Kammer angeordnet ist, in die durch weitere Vorrichtungen die zur DNA oder PNA Synthese notwendigen Lösungen und/oder Reagenzien an diese Festphase heranführbar sind.

15

14. Vorrichtung gemäß Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß man als Festphase, auf der die Oligomersynthese stattfindet, einen separaten Träger anordnet.

20

15. Vorrichtung gemäß Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß die Enden der Lichtleiterfasern selbst die Festphase zur Durchführung der Oligomersynthese sind.

25

16. Verfahren zur photolithographischen Belichtung von biologischen Stoffen, wobei man diese auf einer Oberfläche oder am Ende eines Lichtleiters anordnet und mittels Licht, welches durch Lichtleiter geführt ist und aus einer Lichtquelle stammt, welche am anderen Ende der Lichtleiter angeordnet ist, belichtet, wobei man jeden Punkt, welcher einem Lichtleiterende gegenüberliegt, unabhängig von den anderen Punkten belichtet, wobei man das Belichtungsmuster mittels einer Steuerungseinheit vorwählt.

35

17. Verfahren gemäß Anspruch 16, nämlich zur Belichtung von DNA- oder PNA-Chips, dadurch gekennzeichnet, daß man Licht der Wellenlängen verwendet, welches die  
5 Entschützung von Nukleotiden, Nukleotidanaloga und Peptid-Nukleinsäurebausteinen zur Kettenverlängerung und zum Aufbau von Oligomeren bewirkt und daß man zwischen dieser Lichtquelle und dem Substrat ein Bündel von Lichtleiterfasern anordnet, in welche  
10 jeweils durch gezielte Ansteuerung selektiv Licht eingekoppelt wird und daß man hinter dem Lichtleiterbündel die Festphase, auf der die Oligomersynthese stattfindet, präzise und starr positioniert und daß man die Festphase, auf welcher  
15 die Oligomersynthese stattfindet, in einer Kammer anordnet, in die man durch weitere Vorrichtungen die zur DNA oder PNA Synthese notwendigen Lösungen und/oder Reagenzien an diese Festphase heranzuführt.
- 20 18. Verfahren gemäß Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, daß man nach erfolgter Oligomerisierung auf den DNA- oder PNA-Chips weiterhin die nachfolgenden Hybridisierungen mit einer Ziel-DNA durchführt.
- 25 19. Verfahren gemäß Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, daß man zur Durchführung des Verfahrens eine Vorrichtung gemäß Anspruch 1 verwendet.

## Zusammenfassung

- 5 Es wird eine Vorrichtung und ein Verfahren zur  
photolithographischen Belichtung von biologischen Stoffen  
beschrieben, umfassend mindestens eine Lichtquelle, ein  
Lichtleiterbündel und eine Steuerungseinheit, wobei jeder  
der Lichtleiter unabhängig voneinander mit Licht  
ansteuerbar und/oder Licht in diesen einkoppelbar ist.
- 10 Die Vorrichtung ist insbesondere zur Belichtung von DNA-  
PNA- oder Peptid-Chips geeignet.

